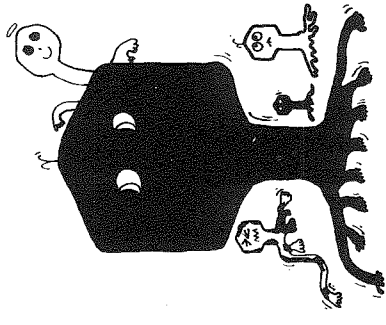
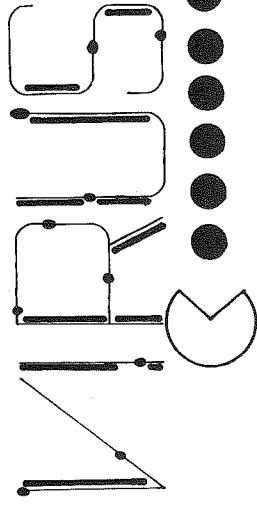


病毒實驗室的



臨床應用觀念



羅雪霞 吳姬戀合譯

病毒實驗室的臨床應用觀念

§ 由於病毒分離所需的組織培養細胞及其鑑定試藥已越來越方便，使得醫院及實驗室更感到設立病毒實驗室的可行性大為提高。對一個小的實驗室而言，建立一病毒實驗室也許並不實用，但身為一個實驗室人員，至少應有一些基本概念例如有關於適當檢體的選擇、收集、運送，以使檢體能適當地傳遞至鑑定中心，這些將有助於病毒鑑定的正確性及效率。這些概念將是本篇文章要陳述的重點。.....: §

【前言】：

病毒實驗室的設立一般在醫院並非很普遍，常只侷限於研究機構，且只對有限的一些病毒有興趣。能作整套從病毒的分離、鑑定至血清試驗 (Full-Service) 的實驗室並不多。大部分是送至鑑定中心作檢驗。常見的問題是報告需數週，甚至數月，報告才能出來，此時可能太遲而失去診斷價值了。事實上，許多簡便、快速的鑑定已正極力的發展，工作人員實有責任洗清一項名譽的事實：檢體送到病毒室就好像送到無底洞的死角一樣。我們應儘量使鑑定結果有助於醫師的診斷與治療。組織培養 (tissue culture)，培養基 (medium)，免疫螢光試劑、免疫過氧酶染色 (immunoperoxidase Stain)，及測定抗原抗體的酶免疫分析法，以上均有廠商提供來源。若更進一步有核酸探針 (nucleic acid) 及融合技術 (hybridization) 的方法，可提供快速偵測。以下我們將討論實際臨床設立一病毒室應予考慮的重點：

一、需求性：婦產科病人較常作 Herpes simplex virus (HSV)。小兒科的病人較常作 Cyto

megalo virus (CMV)。enterovirus，respiratory viruses，及 rotavirus。若有腫瘤科或器官移植的病人，則 CMV，HSV，Varicella zoster (VZV)，adenovirus 則是較重要的病毒。對一些較少見的檢體，則可次之考慮。一個實驗室若無法提供所有病毒的鑑定，至少要做到將新鮮的檢體適當處理及接種至敏感的細胞培養。接種好的檢體，再傳送至病毒中心經由訓練良好的工作人員做鑑定。

二、設備：在細胞培養、培養基泡製、檢體的接種這些操作過程中，須避免污染。Luminar flow，biohazard hood 可用來保護工作者及將外來的污染減至最少。若實驗室只做到將檢體送至病毒中心的前處理，那麼 Safety hood，及 autoclave 是最基本的設備，其他如 incubators，microscopes 及 freezers (-20°C ~ 70°C)，可斟酌工作量，鑑定範圍而購買。

三、專門知識：一個良好的病毒鑑定並非一蹴可成的。對於組織培養的技術，組織培養細胞的保存與選擇，CPE (cytopathic effect) 的辨識，及其他病毒鑑定的間接方法，這些廣泛的技術與知識，均需經專門的訓練與長期的經驗。因為病毒對它生長的環境—pH，溫度有微小變化非常敏感。對規模較小的實驗室而言，可建議將檢體遞送至設備，試藥較周全的病毒中心較為實際。這些衛星實驗室至少可發展 HSV 的培養，工作人員可訓練辨識 HSV 的 CPE，及一些簡單的鑑定步驟。有些廠商宣傳得彷彿每個人都能做 HSV 試驗，事實上，有的 case 並不一定遵循教科書所描述。

【病毒檢體的前處理】：

即使實驗室並不做病毒培養，若有外送也需知道以下幾點，以收集有意義的檢體：一、什麼時候收集檢體 (When) 二、該收集什麼檢體 (What) 三、如何收集 (how)。

一、檢體收集：在病程中及時取檢體。在大多多的病例中，病發之初 titer 高，易於分離培養，然後 titer 下降就可能培養不出來了。當然也有例外，比如排遺物中的 entero-adenovirus 及在先天受感染的嬰兒及免疫抑制病人尿中的 CMV 及 rubella 均可能長期潛伏。

檢體的選擇常決定實驗室病毒培養的成功與否。大多數情況下，侷部性感染只要取感染部位之檢體即可。比如呼吸道的感染取喉嚨抹片 (throat swab)，水痘性紅疹取皮膚刮片等。一個主要的例外是中樞神經的感染。在此類感染中，有些病毒會潛伏在消化道中，因此除了 CSF 之培養外，尚須做 stool 及 throat swab 之培養。散發性疾病則需由身體各部位均取樣來培養。

表(一)列出了檢體及可能致病的病毒。當醫師不確定如何選擇時，在 order 前應先與實驗室討論。此外，檢體應隨同診斷、懷疑病毒及切合的臨床發現一起送到實驗室，這一切對實驗室的工作有莫大的助益。

一個適當的檢體不只是指從正確的部位取檢體，還須取得適當的檢體。比如有些病毒是存於 host cell 中的，則取樣時須連 cell 一起取。有些呼吸道病毒則主要存於呼吸道分泌物中，則取鼻咽的分泌物就比 throat swab 好了。表(二)列出適當的取檢體的步驟。

二、檢體輸送：因為病毒為絕對細胞內寄生，在活體外它們會很快的失去活性。即便有些病毒較穩定，但我們並不能確知它的穩定性，這一點是我們需切記的。

如果能直接將檢體種入適當的組織培養基中那當然是最好的了，那就不必考慮到輸送培養基的問題了。然而，不幸的是，檢體常是取自於小診所、小醫院而不是病毒實驗室中，因此我們對輸送培養基做一番了解。

怎樣才是適當的輸送培養基呢？Tissue culture medium or Balanced salt solution (BSS) 加入一些蛋白質，諸如 gelatin、borine serum albumin，無抗體血清是可用的輸送培養基。這些蛋白質成份具有穩定病毒，保存其生存能力的功效。另外可選用一些抗生素，如 gentamicin、Vancomycin、neomycin、bacitracin、Streptomycin、penicillin 及 Amphotericin B 可以避免培養基之污染。然而如果要培養 Mycoplasma or Chlamydia 時，抗生素的選擇就須特別小心了。

表(三)列出了輸出培養基的供應廠商。一般的輸送培養基是 Hank's balanced salt solution (HBSS)、Leibovitz-Emory medium (LEM)、Stuart's medium Sucrose phosphate glutamate solution (2SPG)，此外也有細菌學上用的 TSB 及 BHI。

在一個比較 HBSS、LEM 及 Stuart's medium 的研究中顯示，此三種輸送培養基的發現率沒有差別，只是接種於 HBSS 的檢體會較多量的病毒產生。

含有 1.5 ~ 3 ml 的培養基最適合。因為過多的培養基會稀釋檢體。

根據研究採樣工具的成份和發現病毒的成功率有密切關係。棉花做成的拭子不僅對細菌、對病毒、Chlamydiae mycoplasma 亦有毒性。含有炭的培養基 (Charcoal - containing medium) 雖適用於細菌，但對於 tissue culture cell 是有毒的，且使的 CPE (Cytotoxic effect) 不易觀察。

溫度：適當的溫度對檢體的輸送是很重要的。因為溫度決定了病毒接種於組織培養後能生長與否。收集之後檢體需冷凍且放入有乾冰的容器中。在 24 ~ 48 hrs 內可接種的檢體存於 4°C 即可。因為冷凍及解凍減少病毒之生存力因而減少了病毒之發現率，因此除非接種會延遲 48hrs 以上，否則不須冷凍檢體。當必須冷凍時，溫度視為 -70°C 或低於 -70°C。在多項研究中，-20°C 是最不適於保存病毒之溫度，當避免之。

§ 組織培養細胞的選擇：

組織培養細胞的選擇因目的而不同。比方說，懷疑為 HSV 時，只要接種入對 HSV 敏感之 cell 即可。而對於提供完全服務之病毒實驗室，則需有各種 cell 來做各種病毒接種之用。此外，各種 monolayers (即接種用的 cell) 須是新鮮的。因為即使只放置一個星期，cell 也會失去一些對 virus 之敏感性。

大部份的實驗室有 primary monkey kidney, human diploid fibroblasts, HEP-2 及 H elacell，這些 cell line 對於各種病毒之敏感性列於表(四)。

某一種 cell line 可比另一種 cell line 對某一種病毒敏感，因此由表(一)及表(四)配合，使我

們有很好的接種於何種 cell line 之資料。

§ 病毒的分離：

一、報告培養結果一病毒之培養有時需要耗時數週，因此醫師須隨時提出 presumptive report，以助醫師的治療。例如：喉嚨的檢體發現有可能為 enterovirus or hemadsorbing agent，則此 presumptive report，助於醫師懷疑為呼吸道感染，而避免了更多無謂而花費很多的鑑定試驗、治療。而此二種 virus 之鑑定則可由醫師 order 而做特殊鑑定而得知。同樣的一個關於 HSV 的 presumptive report 『CPE 可能是由 HSV 引起』(Note：檢體由子宮頸取得)可使醫師得知須以剖腹生產以免使胎兒感染。

二、病毒培養的特徵：人體很多部位有 bacteria 之 normal flora，但病毒決不是人體任何部位之 normal flora。然而，臨床上，我們可培養出沒有臨床症狀或潛伏期的病毒。此外，herpes group、HSV 及 CMV 的潛伏病毒亦可被偵測於不同部位。

許多病毒是由其感染部位之檢體分離出來的，而也有些病毒，尤其是 enterovirus 可由各不同來源之檢體分離出來。這種結果就需由醫師判斷其與疾病的關係了。糞便的檢出物(尤其是來自小孩時)有時是沒有意義的。分離出來的病毒與疾病之關係在表(一)。

§ 結論：

病毒感染的實驗室診斷愈來愈重要了。而分離出病毒仍是實驗室可做的最敏感方法。因愈來愈多的抗病毒藥物已發展出來了，因此病毒的培養也就愈形重要了。經由這篇文章我們可知病毒培養由收集檢體到培養出病毒的一般作業，相信對於觀念的灌輸是頗有幫助的了。

▲表(一)：病毒培養時適當檢體的選擇：

疾病或症狀	檢體	可疑病毒
(一)神經系統	糞便	Enteroviruses (Coxsackie, echo, polio)
無菌腦膜炎	喉嚨抹片	Herpes simplex,
腦炎	CSF	Varicella zoster,
脊髓灰白質炎	(急性或恢復期之血清)	mumps, measles.

(二)呼吸道

上呼吸道感染	喉嚨沖洗物或抹片	Adeno-virus
哮喘症	鼻咽抹片	Rhino virus
氣管炎	(急性或恢復期血清)	entero virus
感冒		Myxo virus

病毒性肺炎

respiratory syncytial virus

(三)疹病

雞疹

Varicella zoster

帶狀疱疹	喉嚨抹片	Herpes simplex
簡單型疱疹	糞便	Cox sackie A
疱疹性咽山夾炎	尿	measles
麻疹	(急性或恢復期血清)	Rubella
德國麻疹	尿	Cytomegalovirus
(四)出生前後的感染	喉嚨抹片	Rubella
巨細胞性內涵體病	CSF	Herpes simplex
德國麻疹症狀	(急性或恢復期血清)	糞便
簡單疱疹	糞便	(ELISA or EM only)
消化道感染	(ELISA or EM only)	Rotacinus
孩童之冬季下痢	糞便	coxackie B
心肌炎、心包炎	喉嚨抹片	Herpes simplex
肋肌痛	心包液或胸胞液	Adenovirus
眼睛感染	(急性或恢復期血清)	Varicella zoster
	結膜抹片或刮片	Vaccinia

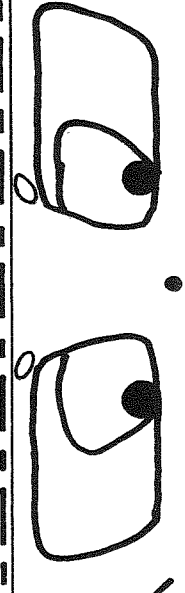
△表(二)：檢體的收集：

- 一、活性切片及解剖器官：使用無菌之設備取下檢體，裝入無菌之輸送培養基中。
- 二、血液：抽 10 ~ 20 cc 放入含有 Citrate 之容器中。
- 三、體液：收集 1 ~ 10 cc 放入無菌試管。
- 四、子宮頸及陰道拭物：多擦去多餘的黏液，用另一拭子取檢體，再置入輸送液中。
- 五、眼睛拭物或刮片：擦拭結膜可得黏膜層的細胞。也可以取角膜之刮片。
- 六、鼻咽之抽取物：利用 infant feeding tube 外接 10 cc 注射筒抽取，置於輸送培養基中。
- 七、糞便：取適量之 stool。
- 八、喉嚨抹片：擦拭適當區域後放入 transport medium。
- 九、喉嚨沖洗物：給病人 5 ~ 10 cc 之 normal saline 嗽口置於無菌杯。
- 十、氣管抹片：用小拭子擦拭該部位。
- 十一、尿：收集 5 ~ 20 cc 之新鮮尿液。
- 十二、水疱或皮膚刮片：清潔患部，用 25 - gauge 之針管吸取。

△表(三)：供應病毒培養之一些廠商：

	Transp. med.	TC cells	I.D. reagents	TC media
Bartels Immunodiagnosics	+	+	+	+
CalScott, Inc.	+	+	+	+
Dako Corp.	+	+	+	+
Dilco	+	+	+	+
Du Pont	+	+	+	+
Earl-Clay Laboratories	+	+	+	+
Electro-Nucleonics, Inc.	+	+	+	+
Flow Laboratories	+	+	+	+
Genus Diagnostics	+	+	+	+
GIBCO	+	+	+	+
Irvine Scientific	+	+	+	+
Kallestad Laboratories	+	+	+	+
M.A. Bioproducts	+	+	+	+
Ortho Diagnostic Systems	+	+	+	+
Remel	+	+	+	+
Viomed Laboratories	+	+	+	+
Wellcome Diagnostics	+	+	+	+

TC = tissue culture



笑是良藥

橄欖油可降低膽固醇

美國史丹福大學精神病教授福來說，笑對身體健康有很大的好處，笑的時候，血壓會升高，而促進血液循環，增加心跳次數，並可減少血液中的膽固醇，防止心臟病的發生，笑還可以刺激身體產生良性化學分泌物，使病人早日康復。

笑對肺和呼吸系統也有好處，笑能夠排除積存在肺臟裡的殘餘空氣，使肺臟不致成爲細菌繁殖的溫床，減少呼吸道感染的機會。笑對全身的肌肉也有好處，平常的微笑，會帶動臉、頸和肩部肌肉的活動，大笑會刺激呼吸系統和四肢肌肉，捧腹大笑的影響更大，幾乎全身的肌肉都會震動。

根據新的研究，在食物中以橄欖油代替飽和脂肪，可以降低膽固醇。

橄欖油的單一不飽和脂肪含量很高，而上述研究顯示，食用單一不飽和脂肪含量豐富的食物，可以有效降低血液中的膽固醇，一如低脂肪飲食。

不過，如果要這種飲食發生作用，人們必須放棄飽和脂肪，代之以單一不飽和脂肪食品。

在大量使用橄欖油的義大利南部和希臘等地中海地區，心臟病也相當少見。

